

水-有机混合介质中电流型生物传感器 对葡萄糖的响应

任聚杰¹, 籍雪平², 李献锐², 王贝贝², 王娜²

(1. 河北科技大学理学院, 河北石家庄 050018; 2. 河北医科大学基础医学院, 河北石家庄 050017)

摘要:利用自组装单分子层(SAMs)/普鲁士蓝(PB)/壳聚糖(Chit)界面固定葡萄糖氧化酶(GOD), 构建酶生物传感器, 对传感器在极性非质子有机溶剂如乙腈(AN)、二甲基亚砜(DMSO)和 *N,N*-二甲基甲酰胺(DMF) 存在条件下的电化学特性进行了研究, 考察了有机溶剂体积分数对传感器响应的影响。结果表明, 传感器在 50% (体积分数) AN 中的电流响应可达到磷酸缓冲溶液(PBS)中的 73%。传感器响应速度快、重现性好、抗干扰能力强, 展现了高的灵敏度(57.3 mA · M · cm⁻²)。该传感器用于血清标本中葡萄糖的检测, 测定结果与市售葡萄糖酶光度测定试剂盒测定结果相吻合。

关键词:生物传感器; 葡萄糖氧化酶; 水-有机混合介质; 血清; 葡萄糖

中图分类号: O657.1 文献标志码: A

Response of amperometric biosensor to glucose in aqueous-organic mixed media

REN Ju-jie¹, JI Xue-ping², LI Xian-rui², WANG Bei-bei², WANG Na²

(1. College of Sciences, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang Hebei 050018, China; 2. Basic Medical College, Hebei Medical University, Shijiazhuang Hebei 050017, China)

Abstract: A biosensor was fabricated with glucose oxidase (GOD) immobilized on self-assembled monolayers (SAMs)/Prussian blue (PB)/chitosan (Chit). The electrochemical characteristics of the biosensor were studied in the presence of dipolar aprotic organic solvents such as acetonitrile (AN), dimethyl sulfoxide (DMSO) and *N,N*-dimethyl formamide (DMF). The effect of volume percentage of organic solvents on biosensor response was investigated. It is observed that the response current of the biosensor in 50% AN reaches 73% of that in phosphate buffer solution (PBS). The amperometric signals are fast, reproducible and exhibiting high sensitivity (57.3 mA · M · cm⁻²). The biosensor was used to determine glucose in serum specimens, and the results are consistent with those obtained with the commercially available glucose enzyme photometric kit.

Key words: biosensor; glucose oxidase; aqueous-organic mixed media; serum; glucose

人们一直认为酶只能在水介质中才能维持其活性, 很少考虑介质作为一个对其活性的影响因素。后来发现酶在一定条件下的有机相中也具有催化活性, 这一发现大大促进了酶的理论和应用研究^[1]。在研究介

收稿日期: 2012-06-18; 修回日期: 2012-09-05; 责任编辑: 张士莹

基金项目: 河北省自然科学基金资助项目(B2010000844)

作者简介: 任聚杰(1963-), 男, 河北石家庄人, 教授, 博士, 主要从事电化学分析方面的研究。

通讯作者: 籍雪平教授。E-mail: xpji03@yahoo.com.cn

质对酶催化的影响时,常把介质分为无水有机介质、微水系统和水-有机溶剂混合介质等^[2],一般都可叫做非水介质。近20年里,人们对酶在非水介质中的研究和相关应用取得了一些显著进展。2001年,KLIBANOV在《Nature》上发表了“把酶用于有机溶剂以改善酶的性能”的文章,综述了酶在非水介质中的研究及应用^[3]。已有的研究结果认为,酶分子中的非共价结合力(如氢键、疏水性和范德华力)对于酶保持其活性结构起着重要的作用,酶表面的水分子对于维持这种相互作用又起着关键的作用。

酶在分析领域的一个重要应用是用来构筑酶电化学生物传感器,酶在非水介质中的应用使得构筑可用于非水介质的酶电化学生物传感器(以下简称非水介质酶传感器)成为可能,同时日益增长的需要(如测定食品、化妆品、药物中难溶于水的成分等)也促进了非水介质酶传感器的发展^[4]。

酶电化学传感器是将酶以某种方式固定在电极表面而形成。为获得性能优良的传感器,不仅要求电极表面的活性质点与电极间有良好的电子交换,而且要求电极表面的酶要具有高的活性和稳定性。酶的固定方法和介质的性质都将影响电极表面酶的微环境,从而影响酶的活性,进而影响传感器的响应性能。因此,对不同的酶固定方法及介质性质对非水介质酶传感器性能的影响进行研究,不仅为研制高性能的传感器打下基础,也将为理解酶在非水介质中的催化机理提供有力的帮助。

在非水介质中研究较多的酶传感器有以酪氨酸酶^[5-6]、辣根过氧化物酶^[4,7]、过氧化氢酶^[8]和胆固醇氧化酶^[9-10]为基础的传感器。然而,只有少数研究是基于葡萄糖氧化酶(GOD)的传感器^[11-12]。其中,GRASSINO等构筑了一种“GOD/Ru-FeNi(CN)₆/石墨”传感器,并研究了其在有机溶剂含量为0~60%(体积分数)的水溶液中的响应特性,以及在牛奶、果汁等生物样品中的应用^[12]。

极性有机溶剂可与水在一定浓度范围内互溶,有些酶电极在含有少量水的极性溶剂中就表现出高响应性^[13-14],而另一些酶电极则要在含有大量水的极性溶剂中才对底物产生响应^[15-16]。最近,研究人员研制了一种可用于水介质中的高灵敏葡萄糖传感器,该传感器是基于电沉积在自组装单分子层(SAMs)上的可控普鲁士蓝(PB)和壳聚糖(Chit)构成的^[17]。在中性介质中,PB展现了对H₂O₂还原的高度稳定性和优异的电催化活性。在此基础上,笔者将探索该葡萄糖传感器在水-极性有机溶剂混合介质中的电化学特性,研究介质的性质如疏水性、介电常数(ϵ)和黏度(η)等对传感器电化学行为的影响规律。

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

CHI750 电化学工作站,上海辰华仪器公司提供;KQ2200DE 超声波清洗器,昆明超声仪器有限公司提供;79HW-1 恒温加热磁力搅拌器,江苏荣华仪器制造有限公司提供;DV215CD 精密电子天平,OHAUS 公司提供。

乙腈(AN)、二甲基亚砜(DMSO)和 *N,N*-二甲基甲酰胺(DMF),均为分析纯,天津永大化学试剂有限公司提供;高氯酸四乙基铵(TEAP),分析纯,TCI 化工发展有限公司提供;壳聚糖(Chit),脱乙酰度为75%~85%,浙江玉环化学试剂公司提供;葡萄糖氧化酶(GOD),10 000 U/mg, Sigma 公司提供;葡萄糖,分析纯,中国天津凯通化学试剂厂提供;铁氰化钾,分析纯,上海化学试剂厂提供;0.1 mol/L 磷酸盐缓冲溶液(PBS),由 K₂HPO₄-KH₂PO₄ 配制;其他试剂均为分析纯,实验用水均为高纯水。

1.2 电化学测量

采用三电极系统检测:工作电极为修饰电极,参比电极为 Ag/AgCl(3 mol/L KCl),对电极为铂丝。在室温下,以 1 mmol/L 的 K₃[Fe(CN)₆]/K₂[Fe(CN)₆](含 0.1 mol/L PBS)为氧化还原探针,采用循环伏安法(CV)对电极表面进行表征。电位扫描速率为 20 mV/s,电位扫描范围为 -0.15~0.5 V(vs. Ag/AgCl(3 mol/L KCl))。此外,采用电流-时间曲线研究传感器对葡萄糖电流响应,应用电势为 0.0 V。电解质溶液为 PBS 与有机溶剂的混合物,其中有机溶剂含有 30 mmol/L TEAP,以增加溶液导电性。

1.3 酶电极制备

将直径为 2 mm 的金电极依次用粒径为 1.0,0.3,0.05 μ m 的 Al₂O₃ 粉抛光成镜面,电极每次用蒸馏水超声清洗。然后把电极依次置于丙酮、Piranha 溶液(V(H₂SO₄):V(H₂O₂)=3:1)中超声。用水清洗后晾干。然后按照文献^[17]报道方法对金电极进行修饰。首先将电极浸入 10 mmol/L 硫辛酸胺的无水乙醇溶液,在 4 $^{\circ}$ C 保持 15 h,修饰硫辛酸胺单分子自组装层(SAMs),取出后依次用无水乙醇、蒸馏水冲洗。然后将

电极置于 $0.050 \text{ mol/L K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6] + 0.050 \text{ mol/L Fe}_2(\text{SO}_4)_3 + 0.10 \text{ mol/L K}_2\text{SO}_4 + 0.050 \text{ mol/L H}_2\text{SO}_4$ 溶液中,在 $-0.05 \sim +0.5 \text{ V}$ 电势范围内连续扫描,电沉积普鲁士蓝(PB)。将电极清洗后,在其表面滴加 $5 \mu\text{L}$ 质量浓度为 10 mg/mL 的 GOD 溶液,置于 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱中。干燥后,于电极表面滴加 $5 \mu\text{L}$ 体积分数为 1% 的 Chit,用 0.25% (体积分数)戊二醛交联 30 min 。修饰电极记为 Chit/GOD/PB/SAMs/Au。

2 结果与讨论

2.1 修饰电极的电化学表征

电化学阻抗谱(EIS)和 CV 是探测修饰电极表面性能的有效工具。实验中以 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ 为探针,采用 CV 对金电极表面的组装过程进行监测。

修饰电极在 $1 \text{ mmol/L } [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ 溶液(0.1 mol/L PBS , pH 值为 7.0)中的循环伏安曲线如图 1 所示。裸金电极显示了很好的法拉第响应(见图 1 A 中的 *a* 曲线),这是氧化还原过程的扩散控制特性。相反,在 SAMs 修饰的电极上几乎观察不到电流响应(见图 1 B 中的 *b* 曲线),表明 SAMs 对氧化还原探针有很好的屏障作用。当 PB 电沉积到电极表面后,电流响应明显增加(见图 1 B 中的 *c* 曲线),表明 PB 层在电极与氧化还原探针之间形成了电子转移通道,促进了电子转移。这是由于 PB 的良好电子媒介作用所致,使电子转移更容易。当 GOD 组装到电极后,电流响应又降低(见图 1 B 中的 *d* 曲线)。这是 GOD 的非导电性所致。随着 Chit 的进一步组装(见图 1 B 中的 *e* 曲线),电流响应又有所增加,说明与 GOD 相比,Chit 促进了电子转移。上述 CV 结果和 EIS 实验的结果^[17]均表明 SAMs, PB GOD 和 Chit 成功组装到金电极上。

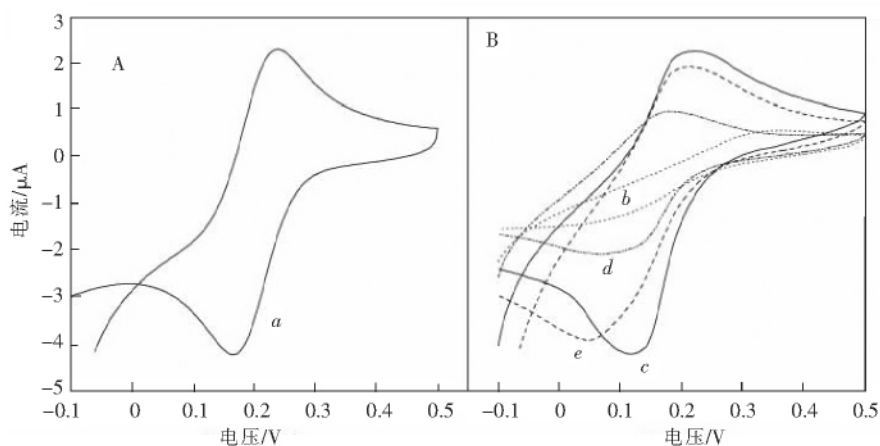


图 1 裸金电极, SAMs/Au 电极, PB/SAMs/Au 电极, GOD/PB/SAMs/Au 电极, Chit/GOD/PB/SAMs/Au 电极在 $1 \text{ mmol/L } [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ 溶液中的循环伏安曲线

Fig. 1 Cyclic voltammograms of bare Au electrode, SAMs/Au electrode, PB/SAMs/Au electrode, GOD/PB/SAMs/Au electrode and Chit/GOD/PB/SAMs/Au electrode in $1 \text{ mmol/L } [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$

2.2 有机溶剂对酶传感器的影响

实验选择了极性非质子溶剂 AN($\epsilon=35.9$), DMSO($\epsilon=46.5$)和 DMF($\epsilon=36.7$)与 PBS 的混合介质,考察了有机溶剂体积分数对酶电极响应信号的影响。有机溶剂的体积分数从 10% 增加到 60% 时,传感器的响应信号随有机溶剂含量的变化如图 2 所示。

由图 2 可知,随着有机溶剂含量的增加响应电流逐渐降低,但 3 种溶剂对电极响应信号影响有所不同。在含 AN 的 PBS 溶液中,随 AN 含量的增加响应电流先快速下降,然后缓慢降低。在 50% (体积分数,下同)的 AN 溶液中,响应信号可以达到在纯 PBS 中的 73% 。当 AN 体积分数超过 50% 时,响应电流明显降低。在含 DMF 和 DMSO 的 PBS 溶液中,响应电流先缓慢降低,当有机溶剂超过 30% 时,响应电流明显下降。在 30% DMF 和 30% DMSO 溶液中的响应信号分别达到在纯 PBS 中的 59% 和 57% 。

传感器在混合介质中的电流响应比在 PBS 中低,这一事实可从以下几个方面解释。首先,有机溶剂的介电常数比水低,会使 GOD 的离子化程度降低,从而使其活性下降。其次,AN,DMF 和 DMSO 都是非质子溶剂,会对蛋白质分子中的氢键产生影响,从而导致 GOD 结构的转换。因此,随着有机溶剂含量的增加,会导致酶活性逐渐降低,但传感器在水-有机溶剂混合介质中响应的灵敏度足以满足葡萄糖检测要求。

2.3 电活性物质的干扰

在 30%(体积分数,下同)DMSO 溶液中加入葡萄糖和不同电活性干扰物,传感器的响应信号见图 3。结果显示,与 0.50 mmol/L 葡萄糖产生的信号相比,0.50 mmol/L 尿酸(UA)、1.0 mmol/L 对乙酰氨基酚(AP)和 0.10 mmol/L 抗坏血酸(AA)产生的电流很小。表明 UA,AP 和 AA 对传感器响应的影响可以忽略不计。这与在 PBS 中的结果相一致^[17]。AP 和 UA 在 50% AN 和 30% DMF 中对传感器的响应(未显示在图中)与 30% DMSO 中情况类似,而 0.10 mmol/L AA 的响应信号明显,但当其浓度降到 0.02 mmol/L 时,电流响应可以忽略不计。传感器表现出了很好的抗干扰能力,这主要归功于壳聚糖交联膜的良好选择渗透性。壳聚糖交联膜可以减少或抑制电活性物质的通透,同时让葡萄糖的氧化产物 H_2O_2 自由通过^[17]。结果表明,不仅在 PBS 而且在有机溶剂存在下,壳聚糖膜均展现了优良的抗干扰能力。

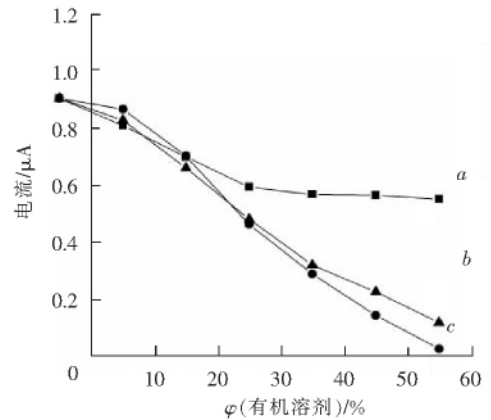
2.4 酶传感器对葡萄糖的响应

考察了酶传感器在 PBS 与有机溶剂的混合溶液中的电流响应行为。酶电极在 50% AN,30% DMF 和 30% DMSO 溶液中对葡萄糖的电流响应见图 4。

当向含有 50% AN 的 PBS 中加入葡萄糖时,在 10 s 之内传感器的响应达到最大稳态电流的 95%,接近在 PBS 中的响应速度^[17](见图 4 中的 a 曲线)。传感器在 30% DMF 和 30% DMSO 中的响应速度比在 50% AN 中慢,20 s 内才能达到最大稳态电流的 95%(分别见图 4 中的 b 曲线和 c 曲线)。这主要归结于底物的扩散速度。底物的扩散速度是影响传感器电流响应快慢的一个重要因素。由于溶剂黏度差别

(20 °C 时,水: 1.00×10^3 Pa·s;AN: 0.37×10^3 Pa·s;DMF: 0.92×10^3 Pa·s;DMSO: 2.24×10^3 Pa·s),葡萄糖在水,AN,DMF 和 DMSO 中的扩散速度不同。另外,有机溶剂与水混合比例不同时的黏度也不同。一般随着有机溶剂含量的增加黏度下降,纯有机溶剂黏度最小。在 AN-水体系中,黏度随二者比例改变而改变^[18]。50% AN 的黏度为 0.82×10^3 Pa·s (25 °C),接近于水的黏度(0.89×10^3 Pa·s,25 °C)。因此传感器在 50% AN 中的响应速度接近于水溶液中的响应速度。而 30% DMF 的黏度比水大^[19],因此,电流响应比在水中慢。同理,传感器在 30% DMSO 中的响应也比在水中慢。然而,传感器在 30% DMF 和 30% DMSO 的响应足够满足葡萄糖检测的要求。

传感器对葡萄糖浓度的线性响应曲线见图 5。标准曲线的线性范围、回归方程及传感器的灵敏度见表 1。在 50% AN 中,传感器对葡萄糖响应的灵敏度接近在 PBS 中的灵敏度。



曲线 a—50% AN;曲线 b—30% DMF;曲线 c—30% DMSO

图 2 传感器的电流响应与有机溶剂含量之间的关系曲线

Fig. 2 Relation between the peak currents of the biosensor and the organic solvent contents

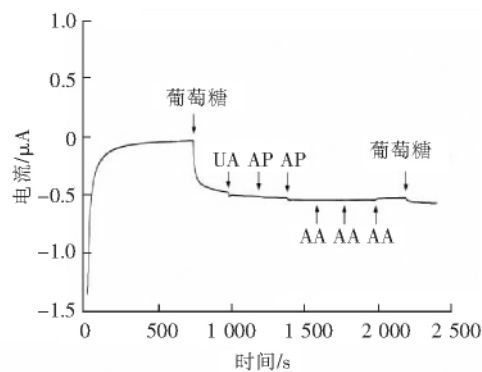
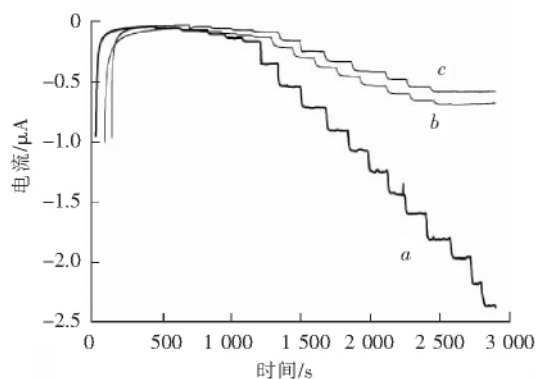


图 3 Chit/GOD/PB/SAMs/Au 电极对葡萄糖和不同电活性干扰物质的电流响应

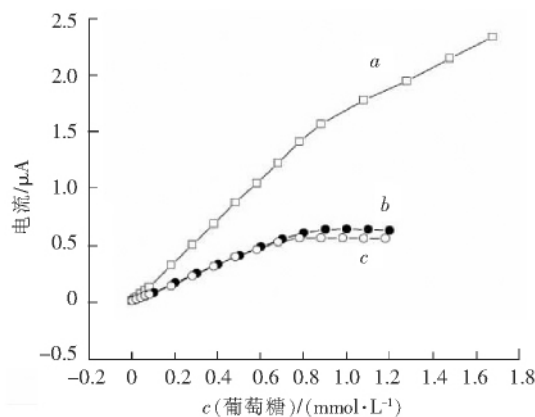
Fig. 3 Current response obtained at the Chit/GOD/PB/SAMs/Au electrode for glucose and different electroactive interferents



曲线 a—50% AN; 曲线 b—30% DMF; 曲线 c—30% DMSO

图4 Chit/GOD/PB/SAMs/Au 电极对葡萄糖响应的电流-时间曲线

Fig. 4 Current-time curves of the Chit/GOD/PB/SAMs/Au electrode for glucose



曲线 a—50% AN; 曲线 b—30% DMF; 曲线 c—30% DMSO

图5 电流响应随葡萄糖含量变化的标准曲线

Fig. 5 Calibration curves of the biosensor as a function of glucose concentration

表1 传感器在不同体积分数有机溶剂中的参数

Tab. 1 Parameters of the biosensor in different volume percentage of organic solvents

电解质溶液	线性范围/(mmol·L ⁻¹)	回归方程	灵敏度/(mA·M·cm ⁻²)
0.1 mol/L PBS ^[17]	0.01~1.0	$y=1.88x+0.01980$	59.9
50% AN	0~0.88	$y=1.80x+0.00799$	57.3
30% DMF	0~0.70	$y=0.799x-0.00309$	25.4
30% DMSO	0~0.68	$y=0.785x-0.00138$	25.0

2.5 酶电极的储存稳定性

酶电极的储存环境是影响其重现性的重要因素。储存条件不当会直接影响其寿命和灵敏度。在水-有机溶剂中,如果将使用过的电极直接浸入 PBS 储存,不可避免地会导致酶的渗漏,影响电极的灵敏度。如果将电极在冰箱干态储存,修饰膜易翘起,甚至从电极表面剥离。经过实验,发现将电极密封于含有 PBS 的器皿中,且电极表面不直接与 PBS 接触时储存效果最好。该环境下保存的电极可使酶膜保留适当水分,这不仅维持了酶活性又可避免酶渗漏和酶膜从电极表面剥离。

实验结果表明,电极在该条件下储存 2 周,电流响应仍能达到 80%。电极良好的储存稳定性归功于壳聚糖膜良好的生物兼容性,该膜可为酶提供维持酶活性的微环境。

2.6 血清标本中葡萄糖检测

为了验证电极在实际样品中对葡萄糖的响应,将构建的传感器用于糖尿病患者血糖检测。为了获得对所有样品大致相当的电流响应,根据血清中葡萄糖含量的不同,需用血清的体积量为 10~40 μL。本方法在 50% AN 中对糖尿病患者血糖的检测结果显示表 2,相对标准偏差(RSD)在 10%以内。

本方法测定的结果与标准分光光度酶法进行了比较。2 种方法的回归分析所得线性回归方程为 $y=0.902x+0.72$, 式中 y 和 x 分别是采用本方法和标准方法测得的葡萄糖浓度。 $R^2=0.959$, 表明 2 种方法的相关性良好。

表2 糖尿病人血清中葡萄糖测定结果

Tab. 2 Test result of glucose in serum of diabetic patients

血清标本采集	葡萄糖浓度 ^① /(mmol·L ⁻¹)	
	本方法 ^②	标准方法
空腹	5.29	5.21
饭后 0.5 h	6.58	7.65
饭后 1 h	9.41	9.55
饭后 2 h	10.50	10.30
饭后 3 h	5.72	4.85

注:①为平均值, $N=3$; ②是指在 50% AN 中。

3 结 语

研究了水-有机溶剂混合介质中葡萄糖生物传感器的电化学特性,探讨了有机溶剂体积分数对传感器响应的影响。酶传感器在 50% AN 中的灵敏度接近在 PBS 中的灵敏度,展现了对葡萄糖快速、灵敏的响应。该传感器具有良好的储存稳定性,可用于 PBS 或水-有机溶剂混合介质中血糖的检测。

参考文献:

- [1] CAMPANELLA L, FAVERO G, PERSI L, et al. Organic phase enzyme electrodes: Application and theoretical studies[J]. *Anal Chim Acta*, 2001, 426:235-247.
- [2] CHATTERJEE S, RUSSELL A J. Determination of equilibrium and individual rate constants for subtilisin-catalyzed transesterification in anhydrous environments[J]. *Biotechnol Bioeng*, 1992, 40:1 069-1 077.
- [3] KLIBANOV A M. Improving enzymes by using them in organic solvents[J]. *Nature*, 2001, 409: 241-246.
- [4] KONASH A, MAGNER E. Characterization of an organic phase peroxide biosensor based on horseradish peroxidase immobilized in east-man AQ[J]. *Biosens Bioelectron*, 2006, 22:116-123.
- [5] WANG B, ZHANG J, DONG S. Silica sol-gel composite film as an encapsulation matrix for the construction of an amperometric tyrosinase-based biosensor[J]. *Biosens Bioelectron*, 2000, 15:397-402.
- [6] CAMPANELLA L, BONANNI A, MARTINI E, et al. Determination of triazine pesticides using a new enzyme inhibition tyrosinase OP-EE operating in chloroform[J]. *Sens Actuators B*, 2005, 111:505-514.
- [7] IWUOHA E I, LEISTER I, MILAND E, et al. Reactivities of organic-phase biosensors(I):Enhancement of the sensitivity and stability of amperometric peroxidase biosensors using chemically modified enzymes[J]. *Anal Chem*, 1997, 69:1 674-1 681.
- [8] CAMPANELLA L, CAPECIOTTI G S, GATTA T, et al. An innovative organic phase enzyme electrode (OPEE) for the determination of ethanol in leadless petrols[J]. *Sens Actuators B*, 2010, 147:78-86.
- [9] LIU W H, HOUNG W C, TSAI M S. Bioconversion of cholesterol to cholest-4-en-3one in aqueous/organic solvent two-phase reactors [J]. *Enzyme Microb Technol*, 1996, 18:184-189.
- [10] LEON R, FERNANDES P, PINHEIRO H M, et al. Whole-cell biocatalysis in organic media[J]. *Enzyme Microb Technol*, 1998, 23: 483-500.
- [11] ADANYI N, TOTH-MARKUS M, SZABO E E, et al. Investigation of organic phase biosensor for measuring glucose in flow injection analysis system[J]. *Anal Chim Acta*, 2004, 501:219-225.
- [12] GRASSINO A N, MILARDOVIC S, GRABARIC Z, et al. Amperometric assessment of glucose electrode behaviour in mixed solvents and determination of glucose in dairy products[J]. *Food Chem*, 2011, 125:1 335-1 339.
- [13] IWUOHA E I, SMYTH M R. Organic phase application of amperometric glucose sensor[J]. *Analyst*, 1994, 119:265-268.
- [14] IWUOHA E I, SMYTH M R. Reactivity of a glucose oxidase electrode in a polar organic solvent[J]. *Anal Proc*, 1994, 31:19-21.
- [15] WANG J, DEMPSEY E, EREMENKO A, et al. Organic-phase biosensing of enzyme inhibitors[J]. *Anal Chim Acta*, 1993, 279:203-208.
- [16] IWUOHA E I, ADEYOJU O, DEMPSEY E, et al. Investigation of the effects of polar organic solvents on the activity of tyrosinase entrapped in a poly(estersulphonic acid) polymer[J]. *Biosens Bioelectron*, 1995, 10:661-667.
- [17] JI X, REN J, NI R, et al. A stable and controllable Prussian blue layer electrode deposited on self-assembled monolayers for constructing highly sensitive glucose biosensor[J]. *Analyst*, 2010, 135:2 092-2 098.
- [18] SNYDER L R. Classification of the solvent properties of common liquids[J]. *J Chromatogr Sci*, 1978, 16:223-234.
- [19] VOLPE C D, GUARINO G, SARTORIO R, et al. Diffusion, viscosity, and refractivity data on the system dimethylformamide-water at 20 °C and 40 °C[J]. *J Chem Eng Data*, 1986, 31:37-40.
- [20] 李 彤,伊丽丽,魏福祥,等. 测酚生物传感器研究进展[J]. *河北工业科技(Hebei Journal of Industrial Science and Technology)*, 2008, 25 (3):172-176.
- [21] 王 亮,尚会建,王丽梅,等. 葡萄糖检测方法研究进展[J]. *河北工业科技(Hebei Journal of Industrial Science and Technology)*, 2010, 27 (2):132-135.